



Bioprospek

<https://fmipa.unmul.ac.id/jurnal/index/Bioprospek>



POTENSI BUAH JUWET (*Syzygium cumini*) UNTUK MENINGKATKAN NILAI TITER ANTIBODI TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus*)

Naveila Al Azizah^{1*}, Alyatul Faizah¹, Efa Lusiana¹

1. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Malang, Jl. Gajayana No.50, Dinoyo, Malang, Jawa Timur – 65144

INFO ARTIKEL

Disubmit **19 April 2024**
Diterima **30 Agustus 2024**
Terbit Online **01 Desember 2024**

Kata kunci: Buah juwet,
immunomodulator, titer antibodi

ABSTRAK

Kesehatan dan kekebalan tubuh merupakan aspek penting yang perlu diperhatikan, terutama di era pandemi saat ini. Kemampuan tubuh dalam melawan benda asing (patogen) dapat diukur melalui titer antibodi. Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini*) sebagai imunomodulator terhadap titer antibodi tikus jantan yang diinduksi sel darah merah sapi. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 4 kelompok dan 5 ulangan. Variabel bebas yang digunakan adalah ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini*) dengan tiga dosis, yaitu 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, dan 150 mg/kg BB, serta perlakuan Na CMC sebagai kontrol. Perlakuan dimulai pada hari ke-1 dan diberikan satu kali sehari selama 11 hari. Tiap kelompok hewan percobaan diinjeksikan secara intraperitoneal pada hari ke-1 dengan 0,5 ml sel darah merah sapi (SDMS) 2% dalam PBS sebagai antigen. Kontrol negatif yang digunakan adalah pemberian Na CMC. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa nilai titer antibodi tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan ekstrak etanol buah juwet dengan dosis 150 mg/kg BB, yaitu sebesar 2,98, diikuti oleh dosis 100 mg/kg BB dengan nilai titer antibodi sebesar 2,94, dan dosis 50 mg/kg BB.

*Email Corresponding Author: nannaveila1406@gmail.com

1. PENDAHULUAN

Kesehatan dan kekebalan tubuh merupakan aspek penting yang perlu diperhatikan, terutama di era pandemi saat ini. Kemampuan tubuh untuk melawan berbagai penyakit menular dan infeksi dapat dilihat dari proteksi terhadap patogen yang ada di tengah masyarakat. Kekebalan tubuh manusia bersifat dinamis, dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti usia, nutrisi, vitamin, mineral, hormon, olahraga, dan emosi (Amalia *et al.*, 2020). Salah satu cara untuk mengukur kemampuan tubuh dalam melawan benda asing (antigen) adalah melalui pengukuran titer antibodi.

Tingkat kekebalan tubuh seseorang yang mengalami infeksi berat dapat menunjukkan titer antibodi rendah, karena jumlah kompleks antigen-antibodi lebih tinggi dibandingkan jumlah antibodi dalam darah (Soegiarto, 2021). Rangsangan terhadap sel tubuh terjadi ketika tubuh terpapar zat yang dianggap asing oleh sel atau jaringan. Konfigurasi asing ini disebut antigen atau imunogen, sedangkan proses yang menyertainya dinamakan respons imun, yang menghasilkan suatu zat bernama antibodi (Akbar *et al.*, 2017). Salah satu antigen yang umum digunakan dalam penelitian adalah sel darah merah sapi (SDMS). Penggunaan SDMS bertujuan untuk merangsang pembentukan antibodi spesifik sehingga tubuh dapat membentuk sistem pertahanannya sendiri, yang dikenal sebagai sistem imun (Purba, 2020).

Sistem imun berkaitan erat dengan keberadaan antibodi. Antibodi adalah protein imunoglobulin yang disekresikan oleh sel B yang berikatan dengan antigen (Ma'at, 2010). Terdapat lima jenis imunoglobulin, yaitu IgG, IgA, IgM, IgD, dan IgE (Bratawidjaja, 2004). Penelitian ini berfokus pada imunoglobulin M dan G, sesuai dengan pernyataan Rahmadani (2008) bahwa antibodi pertama yang dihasilkan adalah imunoglobulin M pada hari ke-6. Setelah imunisasi berulang dengan antigen yang sama, produksi imunoglobulin M menurun, dan imunoglobulin G meningkat.

Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai imunomodulator adalah buah juwet (*Syzygium cumini*). Tanaman ini banyak ditemukan di daerah tropis (Mugnia *et al.*, 2018) dan digunakan sebagai obat tradisional karena kandungan antioksidannya yang tinggi pada buah dan bijinya. Buah juwet mengandung antosianin dan asam polifenol yang berperan sebagai antioksidan (Silahi, 2018).

Penelitian oleh Balyan dan Sarkar (2017) menunjukkan bahwa juwet memiliki kandungan asam galat yang tinggi. Selain itu, penelitian Yadav *et al.* (2012) menunjukkan bahwa aktivitas farmakologi asam galat sebagai imunomodulator dapat ditingkatkan melalui penambahan farmakofor sebagai agen imunomodulator, dengan mekanisme inhibisi residu IFN- α , IL-4, dan IL-6 (protein immunosupresif). Kandungan asam galat yang tinggi menyebabkan aktivitas dominan pada buah juwet (Marliani *et al.*, 2014).

Berdasarkan uraian di atas, ekstrak buah juwet mengandung senyawa polifenol yang diketahui aktif dalam menginduksi sistem kekebalan tubuh. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menguji potensi ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini*) sebagai imunomodulator terhadap titer antibodi tikus jantan yang diinduksi dengan sel darah merah sapi.

2. MATERI DAN METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan tikus jantan sebagai hewan percobaan. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 20 ekor tikus yang dibagi menjadi 4 kelompok dengan 5 ulangan. Tiap kelompok hewan percobaan diinjeksikan dengan 2.5 ml Sel Darah Merah Sapi (SDMS) 2% dalam PBS sebagai antigen secara intraperitoneal pada hari ke-1. Perlakuan dimulai dari hari ke-1 dan diberikan satu kali sehari selama 7 hari.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini kandang hewan, tempat pakan dan minuman, oven (Merk), loyang, blender, alat gelas laboratorium, corong, kertas saring, batang pengaduk, aluminium foil, timbangan analitik, timbangan hewan, mortar dan stamper, mikropipet, microtube, *microtitration plate*, oral sonde, *rotary evaporatory*, jarum suntik 0.5 ml, spuit, hematokrit, pH meter. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah juwet (*Syzygium cumini*) sebanyak 600 gram dan hewan coba tikus jantan sebanyak 20 ekor. Bahan kimia yang digunakan adalah aquades, etanol 70%,

Phosphate Buffer Saline (PBS) (Merk), Sel Darah Merah Sapi (SDMS), EDTA, Karboksi Metil Selulosa (CMC).

Pembuatan Ekstrak Buah Juwet (*Syzygium cumini*)

Metode pembuatan ekstrak berdasarkan penelitian Rahman *et al.*, (2012) yang dimodifikasi yaitu buah juwet seberat 600 gram di oven dengan suhu 50-60°C selama 48 jam. Setelah kering buah di blender hingga menjadi serbuk. Serbuk buah juwet direndam dengan etanol 70% dengan perbandingan serbuk dan etanol 1:10. Rendaman diaduk sesekali pada 6 jam pertama lalu dibiarkan selama 3x24 jam. Maserat diisolasi dengan penyaringan. Proses penyaringan diulang satu kali atau lebih dengan pelarut yang sama, dan volume total pelarut adalah setengah volume pelarut pada ekstraksi pertama. Semua maserat dikumpulkan dan dievaporasi dengan *rotary evaporatory* hingga seluruh etanol menguap.

Pembuatan SDMS 2%

Pembuatan SDMS 2% didasarkan pada penelitian Utami, (2016) yang dimodifikasi. Darah sapi segar yang telah diberikan anti koagulan EDTA disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. kemudian serum dan plasma darah dibuang hingga menyisakan sel darah merah yang mengendap pada bagian bawah. Kemudian ditambahkan PBS sebanyak dua kali volume SDMS yang tersisa. Larutan SDMS dan PBS dihomogenkan dengan membolak-balikan tabung, lalu disentrifugasi kembali. Pencucian SDMS dilakukan sebanyak 5 kali hingga menghasilkan SDMS 100%. Kemudian SDMS 100% diambil sebanyak 2 ml kemudian di tambahkan 100ml PBS sehingga didapatkan SDMS 2%.

Uji Titer Antibodi

Tiap kelompok hewan percobaan diinjeksikan dengan 0,1 ml SDMS 2% dalam PBS sebagai antigen secara intraperitoneal pada hari ke-0. Perlakuan dimulai dari hari ke-0 dan diberikan satu kali sehari selama 7 hari. Pada hari ke-7, sampel darah masing-masing tikus diambil melalui pembuluh darah vena di bagian mata. Sampel darah dikumpulkan dalam tabung mikro (*microtube*), kemudian dilakukan pemisahan plasma, serum dan sel darah dengan cara di sentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Serum diambil untuk pengujian hemaglutinasi.

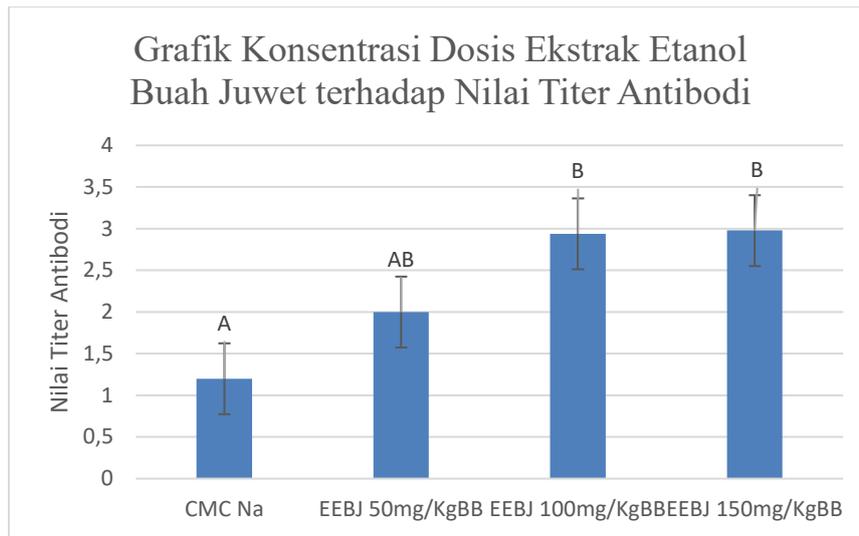
Penentuan nilai titer antibodi dilakukan dengan pengujian hemaglutinasi. Serum darah mencit sebanyak 25 µl ditetaskan ke dalam sumur microtitration plate 96 lubang. Phospat buffer saline dan sel darah merah sapi 2% di tambahkan dengan volume yang sama, kemudian diencerkan dua kali lipat dengan metode serial delution (1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1: 64; 1:128; 1:256; 1:512; 1:1024; 1:2048; 1:4096) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam dan diamati hemaglutinasi secara visual (Makare *et al.*, 2001; Puri & Bagchi, 1993). Nilai titer antibodi ditentukan berdasarkan pengenceran terakhir di mana antibodi masih terdeteksi melalui hemaglutinasi yang terlihat secara visual. Nilai titer antibodi tersebut selanjutnya ditransformasikan dengan $[2\log(\text{titer})+1]$ (Rahmi, 2011).

Analisis Data

Data hasil penelitian diuji homogenitas dan normalitasnya dengan menggunakan SPSS. Data dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA satu arah untuk menentukan perbedaan rata-rata diantara perlakuan dan dilanjutkan dengan menggunakan uji Post Hoc Tuckey untuk mengetahui variabel mana yang memiliki perbedaan. Berdasarkan nilai signifikansi $p < 0,05$ dianggap signifikan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian mengenai pemberian konsentrasi ekstrak etanol buah juwet untuk uji efek imunomodulator memiliki pengaruh yang nyata terhadap nilai titer antibodi pada tikus jantan ($P < 0,05$). Rata-rata nilai hasil konversi menggunakan $2 \log (\text{nilai pengenceran}) + 1$, didapatkan nilai titer antibodi tikus jantan berkisar antara 1,6 – 2,98 (grafik 4.1). Nilai titer antibodi tertinggi terdapat pada perlakuan kelompok ekstrak etanol buah juwet dengan dosis 150 mg/Kg BB, dengan nilai titer antibodi sebesar 2.98 diikuti oleh dosis 100 mg/Kg BB dengan nilai titer antibodi sebesar 2.94, pada dosis 50 mg/Kg BB diketahui rata-rata nilai titer antibodi pada 5 ulangan adalah sebesar 2 dan nilai titer antibodi terendah pada perlakuan control / Na CMC dengan nilai 1,6.



Gambar 1. Dosis ekstrak etanol buah juwet terhadap nilai titer antibodi

Nilai titer yang didapatkan, ditentukan berdasarkan pada nilai pengenceran tertinggi dari serum mencit yang didalamnya masih beraglutinasi dengan sel darah merah sapi, angka titer dapat dicari dengan rumus $2 \log$ pengenceran ($2 \log [\text{titer}] + 1$) (Uthia, 2019). Menurut Roit, (2002) bahwa peningkatan nilai titer antibodi terjadi karena peningkatan aktivasi sel T yang menstimulasi sel B untuk pembentukan antibodi dan peningkatan aktivasi sel B dalam pembentukan antibodi. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak buah juwet memiliki efek imunomodulator untuk meningkatkan nilai titer antibodi. Selain itu, peningkatan dosis buah juwet yang diberikan, juga membuat peningkatan nilai titer antibodi yang terbentuk. Sesuai dengan pernyataan Wang *et al.*, (2020) bahwa senyawa kuersetin dan asam galat yang terkandung di dalam buah juwet, tidak hanya memiliki aktivitas antikanker dan antioksidan saja, namun juga memiliki aktivitas imunomodulator.

Hasil data yang telah didapatkan, kemudian dianalisis statistik dengan menggunakan One Way ANOVA, untuk mengetahui perbedaan yang signifikan dari rata-rata peningkatan nilai titer antibodi tikus jantan yang telah diberi perlakuan ekstrak etanol buah juwet (*Syzygium cumini*). Hasilnya, menunjukkan bahwa, pada tingkat kepercayaan 95%, ekstrak etanol buah juwet (*Syzygium cumini*) signifikan ($P > 0.005$). Terdapat peningkatan nilai titer antibodi pada setiap dosis yang diberikan. Hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa buah juwet memiliki aktivitas imunomodulator untuk meningkatkan titer antibodi. Namun, pada hasil penelitian ini, titer antibodi dinilai tidak protektif untuk meningkatkan sistem imun tikus. Sesuai dengan pernyataan OIE, (2012) bahwa hasil uji HI menunjukkan titer antibodi protektif apabila titer $\geq 4 \log_2$. Hal ini disebabkan karena dalam membentuk antibodi sifatnya individual dan dipengaruhi oleh banyak faktor seperti kondisi kesehatan hewan secara umum, genetik, umur, asupan nutrisi dari pakan, stress, kondisi lingkungan, dan cara pemeliharaan.

4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini*) memiliki potensi sebagai imunomodulator pada tikus jantan yang diinduksi dengan sel darah merah sapi. Namun, ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini*) tidak menunjukkan sifat protektif dalam meningkatkan sistem imun pada tikus jantan.

KEPUSTAKAAN

- Mugnia, A., Gantini, D., & Silalahi, U. A. (2018). Pendidikan Kesehatan Teman Sebaya, Pengetahuan dan Sikap Remaja Tentang Kehamilan Yang Tidak Diinginkan. Media Informasi Poltekkes Kemenkes Tasikmalaya.
- Amalia, L., Irwan., & Hiola, F. (2020). Analisis Gejala Klinis dan Peningkatan Kekebalan Tubuh Untuk Mencegah Penyakit Covid-19. Jambura Journal of Health Sciences and Research, 2(2), 71-76.

- Bratawidjaja, K.G. (2004). *Imunologi Dasar Edisi ke-6*, Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 3-6.
- OIE. (2012). *Newcastle Disease Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 2.3.14. <http://www.oie.int/international-standardsetting/terrestrialmanual/access-online>.
- Purba, E., C. (2020). Kembang Telang (*Clitoria ternatea* L.): Pemanfaatan dan Bioaktivitas. *Jurnal Edu Mat Sains*, 4 (2), 111-124.
- Rahman, S., Putra, B., Kosman, R., & Mustika, R. (2012). Uji Aktivitas Immunoglobulin M (Igm) Ekstrak Etanol Herba Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa*) Pada Mencit (*Mus Musculus*) Jantan dengan Metode Hemaglutinasi. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 4(2), 144-150.
- Soegiarto, G (2021). Respons Imun Terhadap Vaksin COVID-19 dan Komorbid Sebagai Pertimbangan Kehati-hatian. *Satgas Imunisasi Dewasa PAPDI Cabang Jawa Timur FK Unair: Surabaya*.
- Akbar, S., Ardana, I. B. K., & Suardana, I. B. K. (2017). Perbandingan Titer Antibodi Newcastle Disease pada Ayam Petelur Fase Layer I dan II. *Indonesia Medicus Veterinus*, 6(4), 327-333.